

令和 3 年 6 月 16 日現在

機関番号：32620

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08503

研究課題名(和文) Activinによる糖代謝制御機構のメカニズムの解明

研究課題名(英文) Elucidation of the mechanism of glucose metabolism regulation by Activin

研究代表者

岡崎 由希子 (Okazaki, Yukiko)

順天堂大学・医学部・准教授

研究者番号：30422299

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：我々は外科手術で摘出された日本人の皮下および内臓脂肪組織の網羅的発現解析により、BMIが増加すると脂肪組織からのFSTL3(Follistatin like-3)のmRNA発現が増加することを見出した。

FSTL3はActivin Bと結合してActivin Bの作用を抑制することが知られている。

我々はActivin Bが強力な血糖降下作用を持つことを示し、そのメカニズムとして、糖新生抑制作用、およびFGF21の発現増加作用を示し、かつ、各々のパスウェイは異なることを示した。肥満すると糖尿病になる一因として、肥満によって発現増加するFSTL3によるActivin B作用の抑制が考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肥満に伴う糖尿病患者が世界中で急増し大きな問題になっている。この病態解明と治療開発のためには、ヒトの脂肪組織を用いた研究が重要であると考え、日本人の脂肪組織を検討し、その結果、FSTL3(Follistatin like-3)の発現がごく初期の肥満段階から有意に上昇することが分かった(ドイツ人の脂肪組織でも同じ結果であることを確認した)。

FSTL3は「強力な血糖降下作用を有するActivin B」の作用を阻害することを我々は見だし、Activin Bの血糖降下作用のメカニズムには少なくとも2つの経路があることを示した。Activin Bは糖尿病の新規治療薬として有力な候補と考えられる。

研究成果の概要(英文)： We have analyzed the expression profiles in adipose tissues of human subjects who were taken in the surgery. We found that the expression of FSL3 is increased in accordance with increasing BMI in visceral and subcutaneous fat of human subjects. FSTL3 is known to bind to Activin B, thereby inhibiting its function. In glucose tolerance test, mice overexpressing ActivinB exhibited significantly lower glucose levels. In insulin tolerance tests, these mice showed significantly improved insulin sensitivity.

We found that Activin B has the glucose lowering effect by suppressing gluconeogenesis via the ALK2-dependent signaling pathway. We also found that Activin B has the glucose lowering effect by inducing the expression of FGF21 via the ALK4-Smad2 signaling pathway. In the obese state, increased FSTL3 antagonizes Activin B, thereby causing hyperglycemia or Diabetes mellitus. Enhancing the action of Activin B can be a novel therapeutic strategy for the treatment of diabetes.

研究分野：代謝

キーワード：Activin B FSTL3 糖新生 FGF21

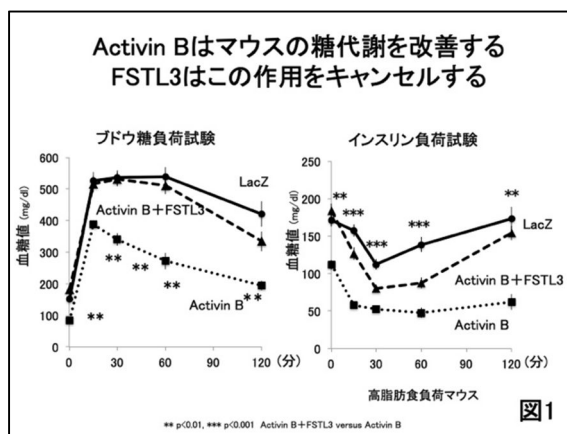
### 1. 研究開始当初の背景

我々は「ヒトのごく初期の肥満段階から発現が変化するアディポカインが、肥満誘因性の耐糖能異常・糖尿病の発症に関わる最上流因子である」という仮説を立てて、正常体型からごく軽度肥満の日本人の脂肪組織を用いた研究を行っていた。そして BMI と正の相関を持つ分泌蛋白候補遺伝子 FSTL3(Follistatin like-3)に注目し、日本人およびドイツ人の皮下脂肪組織および内臓脂肪組織における FSTL3 の mRNA の発現が BMI と正の相関を持つことを、定量的 PCR にて確認した。FSTL3 は胎盤や精巣等に多く発現していることが知られている、分子量 34kDa の分泌蛋白である。

マウスにおける検討では FSTL3 を野生型マウスに過剰発現させると耐糖能が悪化し、逆に db/db マウスに FSTL3 の中和抗体を投与するとインスリン抵抗性が改善して血糖値が改善するデータを得た。これらより、FSTL3 には糖代謝を悪化させる作用があることが示唆された。

一方、FSTL3 は TGF Superfamily 蛋白に結合してそれらの受容体への結合を阻害することによって、それらの作用を抑制していることが知られている。我々は、いくつかの TGF Superfamily 蛋白を検討した結果、Activin B が強力な血糖降下作用を持ち、その作用が FSTL3 によって阻害されるという全く新しい知見を得た(図1)。

Activin B の耐糖能改善作用のメカニズムを検討した結果、肝細胞において糖新生に関わる PEPCK や G6Pase が Activin B によって抑制されること、Activin B が FGF21 の産生を促進することを見いだした。FGF21 はインスリン抵抗性改善作用、血糖低下作用、肥満改善作用等を有しており、Activin B の治療創薬応用へ大いに期待できると考えている。



### 2. 研究の目的

上述の様に我々は、肥満のごく初期からヒトの脂肪組織で FSTL3 の発現が増加すること、FSTL3 は Activin B の作用を阻害すること、Activin B には血糖低下作用があること、Activin B は糖新生抑制作用と FGF21 産生促進作用を有することを明らかにした。本研究は Activin B による糖新生抑制の分子メカニズムの解明、および Activin B による FGF21 の産生促進メカニズムの解明を目的とした。

### 3. 研究の方法

TGF super family のシグナル伝達経路において、Activin B は 1 型受容体である ALK4、ALK5、ALK7 のセリンスレオニンキナーゼを活性化し、その後 Smad2,3 がリン酸化され Smad4 と結合し細胞質から核内に移行し、標的遺伝子の転写調節をすることが報告されている (Leukemia 2011 25(9))。しかしながら、我々は ALK2、ALK3、ALK6 を活性化し Smad1,5、8 がリン酸化され Smad4 と結合しによるシグナル伝達系にも Activin B が関与しているデータを得ている。すなわち、Activin B は少なくとも 2 つの経路を介してシグナル伝達を行うと考えている。

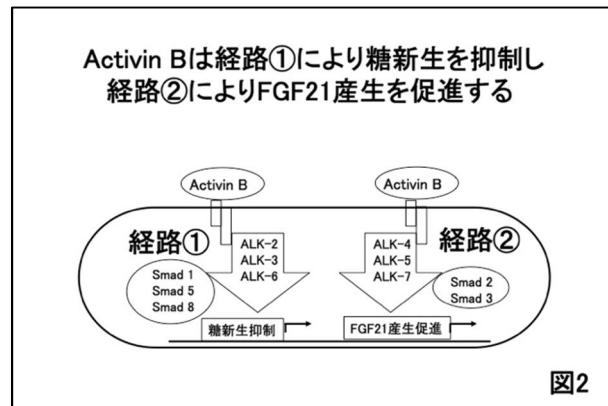
糖新生抑制作用については、Activin B をマウスの肝臓で過剰発現させると、肝臓での糖新生が抑制され、培養肝細胞に添加すると、PEPCK、G6Pase 等の糖新生関連遺伝子の発現が抑制され

ることから、この作用は肝細胞への直接作用であると思われる。Activin B によって ALK-smad のどの経路が活性化され、どのような転写因子との共役で糖新生を抑制するのかを、動物モデルや培養細胞系を用いて検討する。Activin B の FGF21 の産生促進メカニズムについても ALK の抑制や恒常的活性化により、どの経路が調節経路であるのかを検討する。

#### 4 . 研究成果

Fao細胞にActivin Bのrecombinant蛋白を投与したところ、Smad1,5,8のリン酸化を認めた。Fao細胞にtype I 受容体ALK2/3/6の選択的阻害薬LDN-193189を投与したところ、Activin BによるPck1の抑制作用は有意に減弱した。逆にtype I 受容体のconstitutive active formであるALK2(QD)を投与したところ、forskolin/dexamethasoneで誘導されるPck1の発現が抑制された。これらのことより、Activin BはALK2、ALK3、ALK6を活性化しSmad1,5,8をリン酸化する経路で糖新生を抑制することが示唆された(図2)。

Activin Bを過剰発現させたC57BL/6Jマウスでは肝臓でのFGF21のmRNAの発現、FGF21の血中濃度が上昇していた。逆にActivin Bホモ欠損マウスでは、空腹時の肝臓でのFGF21のmRNAの発現、およびFGF21の血中濃度は、C57BL/6Jマウスに比べ有意に低下していた。Fao細胞にActivin Bのrecombinant蛋白を添加すると、容量依存的にFGF21の発現は増加した。また、ALK2とALK3ではなくALK4のconstitutive active変異のみでFGF21の発現は誘導された。また、Fao細胞にALK4/7の選択的阻害薬SB525334を投与するとActivin BによるSmad2のリン酸化とFGF21の発現上昇は消失し、ALK2/3/6の選択的阻害薬LDN-193189を投与してもそのような現象は認めなかった。これらのことより、Activin BはALK4、ALK5、ALK7を活性化しSmad2,3をリン酸化する経路でFGF21の産生を促進することが示唆された(図2)。



ヒトのごく軽度肥満の状態から脂肪組織での mRNA 発現が上昇する FSTL3 により阻害される Activin B には強力な血糖値改善作用があり、この作用機序には少なくとも 2 つの経路が存在することが明らかになった。本研究で Activin B の血糖値改善作用のメカニズムの一部が解明されたことによって、Activin B の治療創薬応用に一步近づいたと考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計12件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 岡崎由希子、小林直樹、岩根亜弥、笹子敬洋、諏訪内浩紹、小林正稔、窪田直人、山内敏正、門脇 孝、植木浩二郎
2. 発表標題 Activin/FSTL3による糖代謝制御機構
3. 学会等名 第39回日本肥満学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小林直樹、岡崎由希子、門脇孝、植木浩二郎
2. 発表標題 Activin B - Fstl3による代謝制御機構とその破綻による代謝異常
3. 学会等名 第61回 日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Naoki Kobayashi, Yukiko Okazaki, Takashi Kadowaki, Kohjiro Ueki
2. 発表標題 Hepatic Activin B controls glucose metabolism
3. 学会等名 39th JASSO, APDO SYMPOSIUM 2018 Asia-Pacific Diabetes and Obesity Study Group Joint with the 39th Annual Meeting of Japan Society for the Study of Obesity (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小林直樹、岡崎由希子、門脇孝、植木浩二郎
2. 発表標題 Activin B-Fstl3による代謝制御機構とその破綻による代謝異常
3. 学会等名 第33回 日本糖尿病合併症学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Naoki Kobayashi, Yukiko Okazaki, Takashi Kadowaki, Kohjiro Ueki
2. 発表標題 Activin B-FstI3による代謝制御機構とその破綻による代謝異常
3. 学会等名 Cardio Renal Diabetes Conference 2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小林直樹、岡崎由希子、門脇孝、植木浩二郎
2. 発表標題 Activin B-FstI3による代謝制御機構とその破綻による代謝異常
3. 学会等名 第33回 糖尿病・肥満動物学会 年次学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小林直樹、岡崎由希子、門脇孝、植木浩二郎
2. 発表標題 Activin B - FstI3による代謝制御機構とその破綻による代謝異常
3. 学会等名 第62回 日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小林直樹、岡崎由希子、門脇孝、植木浩二郎
2. 発表標題 Activin B 活性化による肥満モデルにおける脂肪組織に対する効果
3. 学会等名 第24回 アディポサイエンスシンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小林直樹、岡崎由希子、門脇孝、植木浩二郎
2. 発表標題 Activin B 活性化による肥満モデルにおける脂肪組織に対する効果
3. 学会等名 第40回 日本肥満学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小林直樹、岡崎由希子、門脇孝、植木浩二郎
2. 発表標題 Activin B - Fst13 Axis Regulates Glucose Metabolism
3. 学会等名 第40回 日本分子生物学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小林直樹、岡崎由希子、門脇孝、植木浩二郎
2. 発表標題 Activin B 活性化による肥満モデルにおける脂肪組織に対する効果.
3. 学会等名 第34回 糖尿病・肥満動物学会年次学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小林直樹、岡崎由希子、門脇孝、植木浩二郎
2. 発表標題 Activin B 活性化による肥満モデルにおける脂肪組織に対する効果
3. 学会等名 第63回 日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担 者	笹子 敬洋  (Sasako Takahiro)  (20550429)	東京大学・医学部附属病院・助教    (12601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------